

STERINE UND TRITERPENOIDE—VI

24-METHYLEN-LOPHENOL, EIN NEUES 4 α -METHYL-STERIN AUS *SACCHARUM OFFICINARUM* L. UND *SOLANUM TUBEROSUM* L.

G. OSSKE und K. SCHREIBER

Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen
Akademie der Wissenschaften zu Berlin

(Received 8 January 1965)

Abstract—Leaf waxes from Cuban sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) were shown to contain in addition to β -sitosterol, stigmasterol, campesterol and some yet unknown triterpenoids a mixture of 4 α -monomethyl Δ^7 -sterols. A minor component of this mixture is identical with 24-ethylidene-lophenol (4 α -methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-diene-3 β -ol, III), previously isolated by ourselves from leaves of the potato plant (*Solanum tuberosum* L.). The structure of the main 4 α -methyl sterol from sugar cane, which also occurs in the potato, has been established by molecular mass spectrography and some further investigations as 24-methylene-lophenol (4 α -methyl-5 α -ergosta-7,24(28)-diene-3 β -ol, I). This has been proved by gas chromatographic comparisons of the I and III containing mixtures with synthetic 24-methylene-lophenol. For this synthesis the mixture of I and III was degraded to 24-oxo-lophenol-acetate (3 β -acetoxy-4 α -methyl-5 α -cholest-7-ene-24-one, V), which by reaction with Wittig's triphenylphosphinemethylene reagent gave pure 24-methylene-lophenol (I).

IN DER voranstehenden Mitteilung dieser Reihe¹ berichteten wir über das Vorkommen von 24-Äthyliden-lophenol (4 α -Methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-dien-3 β -ol, III),² Lophenol (4 α -Methyl-5 α -cholest-7-en-3 β -ol) sowie eines weiteren, bisher unbekanntes 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterins der Summenformel C₂₉H₄₈O in Blättern der Kartoffelpflanze, *Solanum tuberosum* L. Dieses neue Sterin ist, wie molekülmassenspektrographische³ und gaschromatographische Untersuchungen zeigten, Hauptkomponente der entsprechenden 4 α -Methyl-Sterinfraction aus Blattwachs von kubanischem Zuckerrohr (*Saccharum officinarum* L.). Als Nebensterine konnten hier 24-Äthyliden-lophenol (III) sowie geringe Mengen einer Verbindung der Bruttoformel C₂₉H₅₀O (wahrscheinlich 24 ξ -Methyl-lophenol), jedoch kein Lophenol nachgewiesen werden. Die Richtigkeit unserer Vermutung,¹ dass dem neuen 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterin C₂₉H₄₈O die Struktur des 24-Methylen-lophenol (4 α -Methyl-5 α -ergosta-7,24(28)-dien-3 β -ol, I) zukommt, liess sich durch gaschromatographischen Vergleich mit aus 24-Oxo-lophenol-acetat (3 β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -cholest-7-en-24-on, V)^{1,4} synthetisiertem I beweisen.

Als Ausgangsmaterial für diese Untersuchungen diente aus Kuba stammendes Zuckerrohr-Blattwachs, und zwar die nach Abtrennung der Hartwachsbestandteile anfallende ölige Komponente. Beim Behandeln deren unverseifbaren Anteils mit Benzin vom Sdp. 70–80° blieb die Hauptmenge der vorhandenen 4-unsubstituierten

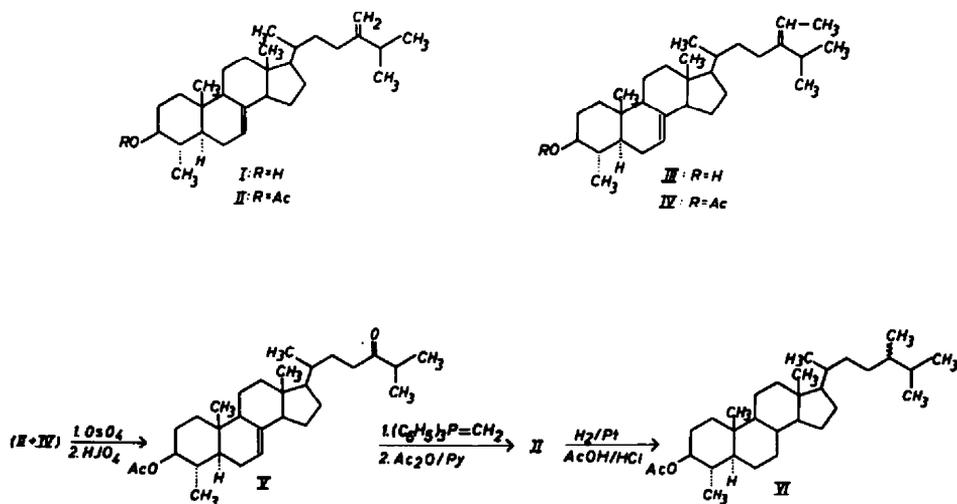
¹ V. Mittel, K. Schreiber und G. Osske, *Tetrahedron* **20**, 2575 (1964).

² Vgl. K. Schreiber und G. Osske, *Experientia* **19**, 69 (1963).

³ Vgl. M. von Ardenne, K. Steinfelder, R. Tümmler und K. Schreiber, *Experientia* **19**, 178 (1963); vgl. Lit.¹; ausführliche Veröffentlichungen sind in Vorbereitung.

⁴ Y. Mazur und F. Sondheimer, *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 6296 (1958).

Sterine ungelöst ("Unverseifbares I"). Diese Sterinfraktion besteht nach dem Molekül-Massenspektrum³ aus etwa 38% β -Sitosterin, 37% Stigmasterin und 25% Campesterin. Weitere Mengen dieser Sterine liessen sich aus dem in Benzin löslichen Teil ("Unverseifbares II") gewinnen. Das früher⁵ neben β -Sitosterin und Stigmasterin aus Zuckerrohr isolierte Brassicasterin konnte nicht nachgewiesen werden.



Chromatographie des "Unverseifbaren II" an Silicagel lieferte ausser den bereits genannten 4-unsubstituierten Sterinen sowie einer Anzahl weiterer Verbindungen⁶ das dünn-schichtchromatographisch einheitliche und im R_F -Wert mit aus *S. tuberosum* isoliertem III übereinstimmende 4α -Methyl- Δ^7 -Steringemisch vom Schmp. 172–173° und $[\alpha]_D + 6.0^\circ$. Seine aus dem Molekül-Massenspektrum³ (M–1-Hauptpeak bei 411 (I), M–1-Nebenpeaks bei 425 (III) und 413) und aus der gaschromatographischen Untersuchung (Abb. 1: b, c, e)⁷ folgende Zusammensetzung wurde durch den positiven Selendioxydtest nach Fieser,^{1,8} den für Δ^7 -Sterine charakteristischen Verlauf der Liebermann-Burchard-Reaktion^{1,9} sowie durch die bei Acetylierung und Benzoylierung auftretenden molaren Rotationsdifferenzen¹⁰ gesichert. Im IR-Spektrum konnten die der Methylengruppierung $\left(\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{CH}_2 \\ \diagdown \end{array} \right)$ zugeordneten¹¹ Banden bei 890 und 1643 cm^{-1} festgestellt werden. Das Molekül-Massenspektrum des acetylierten

³ N. L. Vidyarthi und M. Narasingarao, *J. Indian Chem. Soc.* **16**, 135 (1939); vgl. auch W. Karrer, *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe* S. 854 und 859. Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart (1958).

⁶ Bei einer dieser Substanzen vom Schmp. 194–205° und $[\alpha]_D + 7.9^\circ$ (vgl. Exper. Teil, Substanz W) handelt es sich vermutlich um einen oder mehrere Triterpen-methyläther. Über die Ergebnisse einer weiteren Untersuchung dieser Fraktion wird später an anderer Stelle berichtet.

⁷ Das vermutliche 24 ξ -Methyl-lophenol und I konnten gaschromatographisch nur in Form ihrer Acetate an der selektiven Phase NGS (Neopentylglykolsuccinat) getrennt werden.

⁸ L. F. Fieser, *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 4395 (1953).

⁹ D. R. Idler und C. A. Baumann, *J. Biol. Chem.* **203**, 389 (1953).

¹⁰ Bezüglich der Lit.-Werte vgl. G. Osske, *Dissert. Univ. Halle* (1963).

¹¹ Vgl. M. Barbier und O. Schindler, *Helv. Chim. Acta* **42**, 1998 (1959); dort weitere Lit.

und hydrierten Gemisches zeigte erwartungsgemäss zwei Peaks bei $M = 457$ (3β -Acetoxy- $4\alpha,24\xi$ -dimethyl- 5α -cholestan, VI)¹² und 471 (3β -Acetoxy- 4α -methyl- 5α -stigmastan).¹² Hydroxylierung der acetylierten 4α -Methyl- Δ^7 -Sterinfraktion mit der etwa äquimolaren Menge Osmium(VIII)-oxyd und Spaltung der so erhaltenen $24,28$ -Dihydroxy-Verbindungen mit Perjodsäure lieferten neben 24 -Oxo-lophenol-acetat (3β -Acetoxy- 4α -methyl- 5α -cholest- 7 -en- 24 -on, V)^{1,4} Formaldehyd und Acetaldehyd, die als $2,4$ -Dinitrophenylhydrazone isoliert und papierchromatographisch¹⁶ identifiziert wurden.

Zur Synthese von 24 -Methylen-lophenol (I) wurde das durch Seitenkettenabbau aus dem 4α -Methyl- Δ^7 -Steringemisch gewonnene 24 -Oxo-lophenol-acetat (V) nach Wittig mit der 13 fachen molaren Menge Triphenylphosphin-methylen¹⁷ umgesetzt. Nach Reacetylierung des Reaktionsprodukts erhielt man in 68 -proz. Ausbeute 24 -Methylen-lophenol-acetat (II) vom Schmp. 133 – 135° und $[\alpha]_D +30.8^\circ$ (vgl. Abb. 1: f) und nach dessen Verseifung I vom Schmp. 166° und $[\alpha]_D +2.4^\circ$; IR-Banden bei 890 und 1643 cm^{-1} (vgl. Abb. 1: d). Katalytische Hydrierung von II mit Platin in Essigsäure + etwas HCl ergab 3β -Acetoxy- $4\alpha,24\xi$ -dimethyl- 5α -cholestan (VI).¹²

Das so synthetisierte 24 -Methylen-lophenol (I) erwies sich nach den Ergebnissen der gaschromatographischen Untersuchung als identisch mit dem neuen 4α -Methyl- Δ^7 -Sterin aus *Saccharum officinarum* bzw. *Solanum tuberosum* (vgl. Abb. 1: a–e). Auch die entsprechenden Acetate zeigten bei Gaschromatographie an SE-30 bzw. NGS übereinstimmende relative Retentionszeiten.

Die 4α -Methyl-Sterine 24 -Methylen- und 24 -Äthyliden-lophenol (I bzw. III) wurden in zwei botanisch-systematisch weit voneinander entfernt stehenden Pflanzen aufgefunden.¹⁸ Somit handelt es sich offensichtlich um relativ verbreitete Verbindungen, die—wie z.B. auch Episterin, das 4 -Desmethyl-Homologe von I (5α -Ergosta- $7,24(28)$ -dien- 3β -ol),^{14,15,21} 24 -Methylen-cholesterin¹⁵ und Fucosterin

¹² Die katalytische Hydrierung der $\Delta^{24(28)}$ -Doppelbindung von I bzw. dessen Acetat II erfolgt nach den gefundenen molaren Rotationsdifferenzen¹⁹ offensichtlich nicht stereospezifisch, sondern es entsteht ein Diastereomerenmischung der entsprechenden Ergosta- und Campesterinderivate. Allerdings sollen sich die 24 -Methylen-Verbindungen Episterin (5α -Ergosta- $7,24(28)$ -dien- 3β -ol) und Faecosterin (5α -Ergosta- $8,24(28)$ -dien- 3β -ol) nach Literaturangaben^{14,15} stereospezifisch zu 5α -Ergost- $8(14)$ -en- 3β -ol ($24S$ -Konfiguration) hydrieren lassen, während andererseits aus der 24 -Äthyliden-Verbindung IV vorwiegend Stigmastan-Derivate ($24R$ -Konfiguration) entstehen sollen (vgl.¹ dort weitere Lit.).

¹⁹ Vgl. hierzu W. M. Stokes und W. Bergmann, *J. Org. Chem.* **16**, 1817 (1951).

¹⁴ H. Wieland, F. Rath und H. Hesse, *Liebigs Ann.* **548**, 34 (1941).

¹⁵ Vgl. L. F. Fieser und M. Fieser, *Steroide*, Verlag Chemie, Weinheim, Bergstrasse (1961).

¹⁶ L. Horner und W. Kirmse, *Liebigs Ann.* **597**, 48 (1955).

¹⁷ Zur Methodik vgl. U. Schöllkopf, *Angew. Chem.* **71**, 260 (1959); *Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie* (Herausgeber W. Foerst), Bd. 3, S. 72, Verlag Chemie, Weinheim, Bergstrasse (1961); D. R. Idler und U. H. M. Fagerlund, *J. Amer. Chem. Soc.* **79**, 1988 (1957); W. Bergmann und J. P. Dusza, *Liebigs Ann.* **603**, 36 (1957); F. Sondheimer und R. Mechoulam, *J. Amer. Chem. Soc.* **79**, 5029 (1957).

¹⁸ Vgl. auch das Vorkommen von Lophenol in mehreren mexikanischen Kakteen¹⁹ und in der Kartoffelpflanze¹ sowie von 24 -Äthyliden-lophenol in *Citrus*-Arten (5α -Citrosta- $7,24(28)$ -dien- 3β -ol)²⁰ und *Pinus*-Arten (siehe Fussnote 24 in Lit.¹).

¹⁹ C. Djerassi, G. W. Krakower, A. J. Lemin, L. H. Liu, J. S. Mills und R. Villotti, *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 6284 (1958); C. Djerassi, J. C. Knight und H. Brockmann Jr., *Chem. Ber.* **97**, 3118 (1964).

²⁰ Y. Mazur, A. Weizmann und F. Sondheimer, *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 1007, 6293 (1958); A. Weizmann und Y. Mazur, *J. Org. Chem.* **23**, 832 (1958).

²¹ U. H. M. Fagerlund und D. R. Idler, *J. Amer. Chem. Soc.* **81**, 401 (1959).

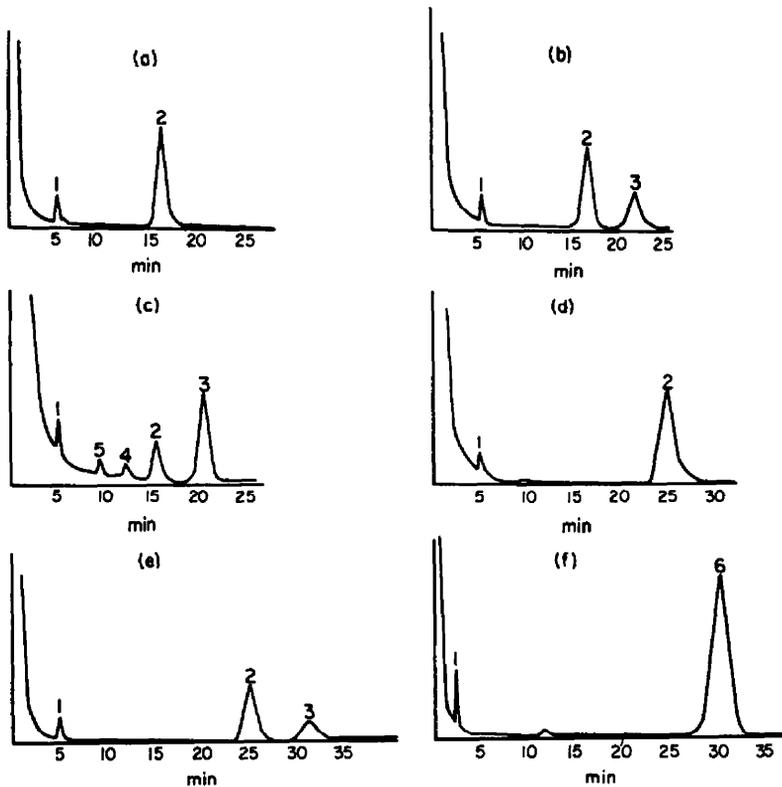


ABB. 1. Gaschromatographie der 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterine und des 24-Methylen-lophenol-acetats.

- (1) Cholestan (Standard), (2) 24-Methylen-lophenol (I),
 (3) 24-Äthyliden-lophenol (III), (4) Lophenol,
 (5) unbekannte Substanz, (6) 24-Methylen-lophenol-acetat (II).
- (a): Synthetisches 24-Methylen-lophenol an SE-30, $t = 236^\circ$,
 (2) relative Retentionszeit (rRZ) = 3·14.
- (b): 4 α -Methyl-Sterine aus *Saccharum officinarum* an SE-30, $t = 236^\circ$,
 (2) rRZ = 3·14, (3) rRZ = 4·12.
- (c): 4 α -Methyl-Sterine aus *Solanum tuberosum* an SE-30, $t = 236^\circ$,
 (2) rRZ = 3·06, (3) rRZ = 4·06, (4) rRZ = 2·42, (5) rRZ = 1·88.
- (d): Synthetisches 24-Methylen-lophenol an QF-1, $t = 204^\circ$,
 (2) rRZ = 5·11.
- (e): 4 α -Methyl-Sterine aus *Saccharum officinarum* an QF-1, $t = 204^\circ$,
 (2) rRZ = 5·11, (3) rRZ = 6·37.
- (f): Synthetisches 24-Methylen-lophenol-acetat an NGS, $t = 215^\circ$,
 (6) rRZ = 13·00.

(24-Äthyliden-cholesterin)¹⁵—Zwischenstufen der Phytosterinbiosynthese²² darstellen dürften.

²² Vgl. E. Heftmann, *Annu. Rev. Plant Physiol.* **14**, 225 (1963); M. Castle, G. Blondin und W. R. Nes, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 3306 (1963); S. Bader, L. Guglielmetti und D. Arigoni, *Proc. Chem. Soc.* **16** (1964); E. Lederer, *Experientia* **20**, 473 (1964).

EXPERIMENTELLER TEIL

Alle Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach Boëtius bestimmt und sind korrigiert; alle optischen Drehungen in CHCl_3 . Die IR-Spektren wurden mit dem Zeiss-Zweistrahlspektrophotometer UR 10 in Nujol aufgenommen; für die Spektren dienten lufttrockene Substanzen. Für die Extinktionsmessungen bei der Liebermann-Burchard-Reaktion wurde das Zeiss-Elektrophotometer "Elko" verwendet. Zur Elementaranalyse wurden die Proben i. Hochvak. bei 100° über P_2O_5 -Paraffin bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das verwendete Benzin wies einen Siedebereich von 70 – 80° auf.

Die Dünnschichtchromatographie (DC) der Sterine²³ erfolgte aufsteigend an Kieselgel G (Merck) mit Benzin-Benzol-Essigester $80:5:15$. Zum Nachweis der Substanzen besprühte man die Chromatogramme mit einer gesätt. Lösung von Cer(IV)-sulfat in 65% H_2SO_4 aq und erhitze anschließend 5 – 10 Min. auf 110 – 120° .

Für die Säulenchromatographie wurde entweder Silicagel (VEB Laborchemie Apolda) oder Florisil (Light & Co., Ltd., Colnbrook, England) verwendet.

Isolierung der Sterine

Als Ausgangsmaterial verwendeten wir die uns vom VEB Jenapharm, Jena, zur Verfügung gestellte ölige Komponente von kubanischem Zuckerrohr-Blattwachs (Zusammensetzung des Blattwachses etwa 40% Öl, 40% Hartwachs und 20% Harz). 700 g dieses Öls wurden mit 3.5 l. MeOH. Kalilauge (125 g KOH + 60 g Wasser + 800 g MeOH) 1 Stde. unter Rückfluss verseift. Nach Zugabe von 3.5 l. Wasser erhitze man nochmals kurz zum Sieden und extrahierte die erkaltete Seifenlösung einmal mit 8 l. und 4 mal mit je 4 l. Äther-Benzin $1:1$. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft: 154 g Unverseifbares (22% , bezogen auf das eingesetzte Öl).

Das Unverseifbare (148 g) wurde bei Raumtemperatur mit 750 ml Benzin behandelt, der unlösliche Anteil abgesaugt und mit Benzin gewaschen: 54 g kristalline, schwach gelb gefärbte Substanz ("Unverseifbares I") vom Schmp. 136 – 138° . DC: $R_{\text{Stand.}}$ 1.0 , bezogen auf Cholesterin. Das Molekül-Massenspektrum⁸ zeigt 3 M– 1 -Hauptpeaks bei 399 (Campesterin, 25%), 411 (Stigmasterin, 37%) und 413 (β -Sitosterin, 38%).

Filtrat und Waschflüssigkeit vom "Unverseifbaren I" wurden eingedampft: 92 g "Unverseifbares

Fractionen	Substanz	Menge*
1– 30	vorwiegend Kohlenwasserstoffe	1.32 g
31– 41	stark gefärbte, nicht identif. Substanz	1.44 g
42– 58	stark gefärbte, nicht identif. Substanz	0.84 g
59– 76	Substanz W†	0.94 g
77– 86	nicht identifizierte Substanz	0.09 g
87– 96	nicht identifizierte Substanz	2.99 g
97–104	vorwiegend Substanz A‡	2.17 g
105–112	u.a. 4α -Methyl- Δ^7 -Sterine	2.37 g
113–123	vorwiegend β -Sitosterin, Stigmasterin und Campesterin	5.60 g
124–147	nicht identifizierte Substanz	2.29 g

* Die Mengen- und Fraktionsangaben beziehen sich auf eine Säule (23 g "Unverseifbares II").

† Vgl. Fussnote^a

‡ Die Substanz A hat den gleichen R_F -Wert wie Cycloartenol;²³ nach dem Molekül-Massenspektrum enthält sie neben weiteren Verbindungen vermutlich auch Triterpenoide.

²³ Vgl. K. Schreiber, G. Osske und G. Sembdner, *Experientia* **17**, 463 (1961); K. Schreiber und G. Osske, *Kulturpflanze* **10**, 372 (1962); K. Schreiber, O. Aurich und G. Osske, *J. Chromatog.* **12**, 63 (1963); sowie Lit.¹.

II", die man in 400 ml Benzin löste und an 4 Silicagelsäulen (Größe 9 × 72 cm, je Säule 2.5 kg Silicagel) chromatographierte; Elution pro Säule mit je 3 l. Benzin-Benzol 3:1 bzw. 1:1, Benzin-Benzol-Essigester 6:3:1, 9:6:5 bzw. 7:6:7 sowie mit 4.8 l. Benzin-Benzol-Äthanol 7:2:7 (Fraktionen zu je 100 ml). Die DC ergab das in der Tabelle amf S. 5 angeführte Ergebnis.

4 α -Methyl- Δ^7 -Steringemisch

Die 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterine enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt (von 4 Säulen insgesamt 8.99 g) und hiervon 8.49 g an 1.5 kg Florisil rechromatographiert (Säulengröße 7.5 × 52 cm). Man eluierte zuerst mit 2 l. Benzin-Benzol-Essigester 91:5:4 und anschliessend mit Benzin-Benzol-Essigester 90:5:5 (Fraktionen zu je 20 ml). Die DC-Kontrolle führte zu folgendem Resultat:

Fraktionen	Substanz	Menge
1-120	stark gefärbte, nicht identif. Substanz	221 mg
121-188	Substanz A	2658 mg
189-209	Substanz A + 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterine	803 mg
210-255	4 α -Methyl- Δ^7 -Sterine	1300 mg

Zur weiteren Reinigung wurden 1000 mg der 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterinfraktion nochmals an 175 g Florisil chromatographiert; Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 90:5:5. Umkristallisation aus Äther-MeOH ergab feine Nadeln vom Schmp. 172-173°, $[\alpha]_D^{25} + 6.0$ ($c = 1.41$); Molekül-Massenspektrum ($T_v = 170^\circ$):⁹ Hauptpeak bei $M = 411$ (I), Nebenpeaks bei $M = 425$ (III) und 413 (vermutlich 24 ξ -Methyl-lophenol); Gaschromatogramm:⁷ Vgl. Abb. 1: b und e. (Ber. für $C_{28}H_{48}O$ (412.7): C, 84.40; H, 11.72; Gef.: C, 84.44; H, 11.75%.)

Die Substanz gab positiven Selendioxydtest nach Fieser.^{1,8} Die modifizierte Liebermann-Burchard-Reaktion^{1,8} lieferte folgenden Extinktionswert: $E_{622} = 3100/\text{mMol}/3.1 \text{ ml}$ Farblösung nach 125 Sek. bei 21° ($d = 1.00 \text{ cm}$).

Acetylderivat. Das 4 α -Methyl- Δ^7 -Steringemisch (200 mg) wurde mit 3 ml Acetanhydrid und 4 ml Pyridin 24 Stdn. bei 37° stehengelassen. Es wurde i. Vak. abdestilliert und der Rückstand an 28 g Florisil chromatographiert; Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 90:8:2. Umkristallisation aus Äther-MeOH lieferte flache Nadeln vom Schmp. 146-147°, $[\alpha]_D^{25} + 29.8^\circ$ ($c = 0.70$). (Ber. für $C_{31}H_{50}O_2$ (454.7): C, 81.96; H, 11.08; Gef.: C, 82.38; H, 11.33%.)

Benzoylderivat. Das Steringemisch (100 mg) wurde in 2 ml Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 0.3 ml Benzoylchlorid versetzt. Nach 30 Stdn. Aufbewahren bei Raumtemperatur und Zugabe von 5 ml Wasser extrahierte man mit Äther. Die äther. Lösung wurde 2mal mit je 5 ml n NaOH, 0.5 n H_2SO_4 und Wasser gewaschen sowie über Na_2SO_4 getrocknet. Chromatographie des Destillationsrückstands an 17.4 g Florisil (Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 90:8:2) und Umlösen aus Essigester-Äthanol ergab ein Gel, das langsam nadelförmige Kristalle bildete; Schmp. 162-166°, $[\alpha]_D^{25} + 47.9^\circ$ ($c = 1.30$).

Perhydro-acetylderivat. Das Gemisch der 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterinacetate (100 mg) wurde, in 20 ml Eisessig gelöst, in Gegenwart von 85 mg Platin und 4 Tropfen konz. HClaq 20 Stdn. bei 19° hydriert. Man filtrierte, engte das Filtrat auf etwa 2 ml ein und versetzte mit 15 ml Wasser. Nach Extraktion mit Äther wurde die organ. Phase mit 0.1 n NaOH und Wasser gewaschen sowie über Na_2SO_4 getrocknet. Chromatographie des Destillationsrückstands an 6 g Florisil (Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 90:8:2) und Kristallisation aus Äther-MeOH lieferte Nadeln vom Schmp. 146-147° und $[\alpha]_D^{20} + 39.5^\circ$ ($c = 0.61$). Das Molekül-Massenspektrum ($T_v = 210^\circ$)⁸ zeigte 2 Hauptpeaks bei $M = 457$ (VI) und 471 (β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -stigmastan).¹³

Verseifung des Perhydro-acetylderivats. Das voranstehend beschriebene Präparat (45 mg) wurde in 7 ml Benzol gelöst und mit 20 ml etwa 12% MeOH. Kalilauge 2 Stdn. zum Sieden erhitzt. Anschliessend engte man i. Vak. ein, löste den Rückstand in Äther, wusch die äther. Lösung mit n H_2SO_4 und Wasser, trocknete über Na_2SO_4 und destillierte i. Vak. ab. Der Rückstand kristallisierte aus Äther-MeOH in Nadeln vom Schmp. 189-190° und $[\alpha]_D^{25} + 27.3^\circ$ ($c = 0.78$).

24-Oxo-lophenol-acetat (β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -cholest-7-en-24-on, V)

Das 4 α -Methyl- Δ^7 -Sterinacetat-Gemisch (920 mg) wurde in 16 ml Benzol und 0.5 ml Pyridin gelöst, mit einer Lösung von 500 mg Osmium(VIII)-oxyd in 48 ml Benzol versetzt und 5 Stdn. im Dunkeln gerührt. Nach Zugabe von 5.2 g Na_2SO_3 in 240 ml EtOH und 32 ml Wasser erhitzte man

2 Stdn. zum Sieden. Anschliessend wurde heiss filtriert und der Rückstand mit heissem EtOH gewaschen. Filtrat und Waschflüssigkeit wurden i. Vak. auf etwa 70 ml eingengt, mit 100 ml Wasser versetzt und 2mal mit je 50 ml Äther und je 50 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten Extrakte wusch man mit Wasser, trocknete über Na_2SO_4 und dampfte i. Vak. ein. Den Rückstand (955 mg) löste man in 120 ml peroxydfreiem Tetrahydrofuran, versetzte mit 1·8 g NaIO_4 in 8·4 ml H_2SO_4 und liess 20 Stdn. bei Raumtemperatur im Dunkeln stehen. Anschliessend wurden etwa 30 ml in einem schwachen Stickstoffstrom abdestilliert; als Vorlage verwendete man eine eisgekühlte Lösung von 500 mg 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in 15 ml EtOH und 35 ml 40% H_2SO_4 aq. Nach Entfernen des Tetrahydrofurans durch Vakuumdestillation der Vorlage fielen 54 mg Hydrazon aus, die papierchromatographisch¹⁴ (Schleicher & Schüll 2045 AM, mit Dimethylformamid imprägniert, absteigende Entwicklung mit Dekalin, Kammersättigung 7 Stdn.) als Formaldehyd-2,4-dinitro-phenylhydrazon (R_f 0·33) und Acetaldehyd-2,4-dinitro-phenylhydrazon (R_f 0·47) identifiziert wurden.

Die von den Aldehyden befreite Tetrahydrofuranlösung wurde i. Vak. auf etwa 50 ml eingengt, mit 40 ml Wasser versetzt und 2mal mit je 50 ml Äther und je 50 ml Essigester ausgeschüttelt. Man wusch die vereinigten Extrakte mit 5% K_2CO_3 aq sowie Wasser, trocknete über Na_2SO_4 und dampfte i. Vak. ein. Der Rückstand (887 mg) wurde mit 4 ml Acetanhydrid und 6 ml Pyridin nachacetyliert (20 Stdn. bei 40°). Anschliessend dampfte man i. Vak. ein und chromatographierte den Rückstand an 45 g Silicagel (Säulengrösse 2·5 × 30 cm). Man eluierte zuerst mit 300 ml Benzin-Benzol-Essigester 89:10:1 und anschliessend mit Benzin-Benzol-Essigester 88:10:2 (Fraktionen zu je 4 ml). Die DC (Entwicklung mit Benzin-Benzol-Essigester 85:10:5) ergab folgendes Ergebnis:

Fraktionen	Substanz	Menge
1-23	—	—
24-28	*	163 mg
29-44	—	—
45-75	24-Oxo-lophenol-acetat (V)	371 mg

* Nicht umgesetztes Ausgangsmaterial und im Steringemisch vorhandenes 24 β -Methyl-lophenol-acetat (?).

Der Rückstand der Frakt. 45-75 (371 mg) kristallisierte aus Äther-MeOH in Nadeln vom Schmp. 119·5-120° und $[\alpha]_D^{17} + 24\cdot7^\circ$ ($c = 1\cdot92$); nach Mischschmp. und IR-Spektrum identisch mit authent. V^{1,4} [Lit.⁴: Schmp. 116-118°, $[\alpha]_D + 25^\circ$].

Synthese von 24-Methylen-lophenol (I)

24-Methylen-lophenol-acetat (3 β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -ergosta-7,24(28)-dien, II). Zu einer Suspension von getrocknetem und pulverisiertem Ph_2MgBr (3·57 g, 10 mMol) in 75 ml Äther (über PhMgBr destilliert) wurden bei Raumtemperatur und unter starkem Rühren 6 ml einer 1·5 n äther. Butyllithiumlösung getropft. Nach 2 Stdn. Rühren gab man 350 mg (0·77 mMol) V in 25 ml absol. Äther hinzu, rührte weitere 4 Stdn. und liess etwa 16 Stdn. stehen. Der Äther wurde abdestilliert, durch 65 ml Tetrahydrofuran (über PhMgBr destilliert) versetzt und die Lösung 6 Stdn. zum Sieden erhitzt. Alle Operationen wurden unter sauerstofffreiem, trockenem N_2 ausgeführt. Nach Zugabe von 30 ml Wasser wurde 2mal mit je 30 ml Äther extrahiert, die vereinigten Extrakte mit $\text{n H}_2\text{SO}_4$ und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet sowie i. Vak. eingedampft. Den Rückstand reacylierte man mit 6 ml Acetanhydrid und 8 ml Pyridin (16 Stdn. bei 40°). Chromatographie an 15 g Silicagel (Säulengrösse 2 × 16 cm) mit je 100 ml Benzin-Benzol 90:10, Benzin-Benzol-Essigester 89:10:1, 88:10:2 bzw. 86:10:4 ergab 237 mg II (68% d. Th.). Eine Probe (60 mg) wurde an 6 g Silicagel rechromatographiert (Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 88:10:2) und aus EtOH umkristallisiert: Plättchen vom Schmp. 133-135° und $[\alpha]_D^{20} + 30\cdot8^\circ$ ($c = 1\cdot06$). IR-Banden: 821, 831, 868, 900 (Methylen), 916, 979, 1012, 1027, 1045, 1103, 1164, 1640 (Methylen), 1250 und 1738 cm^{-1} (O-Acetyl). Gaschromatogramm: Vgl. Abb. 1: f.

24-Methylen-lophenol (4 α -Methyl-5 α -ergosta-7,24(28)-dien-3 β -ol, I). Das Acetat II (130 mg) löste man in 10 ml Benzol und erhitzte nach Zugabe von 40 ml MeOH. Kalilauge (1·3 g KOH + 6 ml Wasser + 200 ml MeOH) 1·5 Stdn. zum Sieden. Anschliessend wurde i. Vak. auf etwa 10 ml eingedampft und 2mal mit je 15 ml Äther extrahiert. Man wusch die vereinigten Extrakte mit $\text{n H}_2\text{SO}_4$

sowie Wasser, trocknete über Na_2SO_4 und dampfte i. Vak. ein. Chromatographie des Rückstandes an 10 g Silicagel (Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 85:10:5) ergab 96 mg I (81% d. Th.). Aus EtOH feine Nadeln vom Schmp. 166° und $[\alpha]_D^{20} + 2.4^\circ$ ($c = 1.38$). IR-Banden bei 820, 834, 890 (Methylen), 977, 1022, 1060, 1105, 1157, 1643 (Methylen), 3220 und $3310\text{--}80\text{ cm}^{-1}$ (breit, Hydroxyl). Gaschromatogramm: Vgl. Abb. 1: a und d.

3β -Acetoxy- $4\alpha,24\zeta$ -dimethyl- 5α -cholestan (VI).¹³ Verbindung II (40 mg) wurde, in 13 ml Essigsäure gelöst, in Gegenwart von 34 mg Platin und 3 Tropfen konz. HClaq 20 Stdn. bei Raumtemperatur hydriert. Anschliessend filtrierte man, dampfte bis zur Trockne ein und reacylierte etwas entstandene Hydroxyverbindung mit 3 ml Acetanhydrid und 4 ml Pyridin (10 Stdn. bei 40°). Der Destillationsrückstand wurde an 3 g Silicagel (Elution mit Benzin-Benzol-Essigester 88:10:2) chromatographiert: 38 mg VI (95% d. Th.). Nach Umkristallisation aus Äther-EtOH feine Nadeln vom Schmp. $145\text{--}147^\circ$, $[\alpha]_D^{20} + 41.3^\circ$ ($c = 0.70$).

Herrn Dr. M. J. Thompson, Agricultural Research Service, Beltsville (Maryland) sind wir für die gaschromatographischen Untersuchungen zu grossem Dank verpflichtet. Ausserdem danken wir Herrn Dr. R. Tümmler, Forschungsinstitut Manfred von Ardenne, Dresden-Weisser Hirsch, für die Molekül-Massenspektrogramme, Herrn Dr. K. Heller, Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena, für die Aufnahme der IR-Spektren sowie Frau M. Adrian für sorgfältige technische Mitarbeit. Die Mikroelementaranalysen wurden von Herrn Dr. W. Knobloch und Frau F. Knobloch, Institut für Pharmakologie des medizinisch-biologischen Forschungszentrums Berlin-Buch der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, ausgeführt.